台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 74(3):345–357 (2025)
https://doi.org/10.6156/JTAR.202509_74(3).0011 研究報告

洛神葵疫病病原 *Phytophthora nicotianae* 的鑑定及抗病品種之篩選

蔡惠玲[1] 詹月梅[1] 許琲瑋[2] 黃晋興[3] 蔡志濃[4] 安寶貞[5] 陳敬文[6] 林筑蘋[7,*]

摘要

蔡惠玲、詹月梅、許琲瑋、黃晋興、蔡志濃、安寶貞、陳敬文、林筑蘋。2025。洛神葵疫病病原 *Phytophthora nicotianae* 的鑑定及抗病品種之篩選。台灣農業研究 74(3):345–357。

洛神葵為臺灣之重要特用作物，本研究於中部田間調查發現，罹患疫病的洛神葵在雨季後經常出現葉片失水下垂、莖基部呈現褐化，以及根部褐變腐敗，罹病後期全株呈乾枯狀，並造成嚴重損失。經調查，本研究分離獲得的洛神葵疫病菌近年均為 A^1 配對型，但早年分離的菌株均為 A^2 配對型。以形態特徵輔以分子序列，並經柯霍氏法則完成病原性測定，確定洛神葵疫病是由 *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan 1896 (= *P. parasitica*) 所造成，且菌株致病力差異與傷口有無都可能會影響病害嚴重度。利用中度致病力分離株作為品種抗感病篩選的供試菌株，針對 7 種常見之洛神葵品種進行接種。不同洛神葵品種對於疫病菌具有不同程度的抗感病性，其中「臺東 2 號」、「臺東 3 號」及「臺東 4 號」等 3 個洛神葵品種具有較高的抗性，「大紅」與「斑馬」等 2 品種感病性最高，而「臺東 1 號」則為中等感病。

關鍵詞：洛神葵疫病、病原性測試、品種抗感病性。

前言

洛神葵 (*Hibiscus sabdariffa* L.) 英文名：Roselle，又名山茄、玫瑰茄、羅濟葵、紅葵及洛濟葵，俗稱洛神花 (Chen 2012)。洛神葵包括至少 2 個用途不同的變種：*H. sabdariffa* var. *altissima* Westerr 豐富的韌皮纖維是全球重要之經濟纖維來源；*H. sabdariffa* var. *sabdariffa* 肉質的果萼能製果凍、果醬及蜜餞等加工食品或烘乾泡茶飲用，普受國人歡迎，為臺灣常見的栽培變種 (Ansari *et al*. 2013; Chen 2022)。

在臺灣，洛神葵主要產區包括東部的臺東縣與花蓮縣、中部的南投縣與雲林縣，其中高達 7 成以上集中在臺東縣，為最大的栽培中心 (Chen 2022)。已知的洛神葵病害種類包括灰黴病 (病原 *Botrytis cinerea*)、角斑病 (病原 *Cercospora malayensis*)、炭疽病 (病原 *Colletotrichum gloeosporioides* s.l.)、菌核病 (病原 *Sclerotinia sclerotiorum*)、青枯病 (病原 *Ralstonia solanacearum*) (Tzean *et al*. 2019) 以及由 *Fusarium solani* 引起的萎凋病 (Wang *et al*. 2021) 等。此外 Yu (1975) 報告洛神葵立枯病 (roselle blight) 由疫病菌 *Phytophthora* sp. 引起，而現今則稱該病害為『洛神葵疫病』。

洛神葵疫病在中美洲、非洲及亞洲等地造成莫大的損失，曾造成田間 10–25%，甚至 40% 以上的產量損失；透過人工接種，亦能夠

投稿日期：2025 年 5 月 15 日；接受日期：2025 年 7 月 22 日。
* 通訊作者：cplin@tari.gov.tw
1 農業部農業試驗所植物病理組計畫助理。臺灣 臺中市。
2 國立屏東科技大學植物醫學系大學生。臺灣 屏東縣。
3 農業部農業試驗所植物病理組研究員。臺灣 臺中市。
4 農業部農業試驗所植物病理組研究員兼組長。臺灣 臺中市。
5 農業部農業試驗所植物病理組前研究員兼組長。臺灣 臺中市。
6 農業部臺東區農業改良場作物改良科助理研究員。臺灣 臺東縣。
7 農業部農業試驗所植物病理組助理研究員。臺灣 臺中市。

導致 100% 的接種植株死亡 (Rojas-Rojas *et al*. 2017; Swathi *et al*. 2025)。在墨西哥，洛神葵疫病被稱為 “black leg”，罹病植株會出現莖基部壞死，壞死之病徵有時會向上擴展到地上部分與部分枝條，進而造成地上部萎凋、黃化及葉片軟化，被視為種植洛神葵最重要的病害之一 (Ortega-Acosta *et al*. 2015)；在印度或其他地區，洛神葵疫病又稱為 “foot and stem rot”，或是 “root rots”，病徵包括根與莖基部黑褐化、地上部萎凋，最終導致植株死亡，嚴重影響產量 (Ansari *et al*. 2013; Swathi *et al*. 2025)。

在臺灣，最早的洛神葵疫病紀錄於 1974 年的臺中，病徵與前述墨西哥與印度案例相似，植株自幼株即會受害，到生育盛期亦易罹病，可導致全園嚴重受害 (Yu 1975)；之後，2018 年在臺東亦出現萎凋病徵之洛神葵根部可分離到疫病菌的記錄，初步鑑定為 *P. nicotianae* (Wang *et al*. 2019, 2021)。然而，關於臺灣洛神葵疫病病原相關的科學證據實並不完整，例如對於病原菌的特徵描述尚不完全，且仍有待完成柯霍式法則 (Huang *et al*. 2023)。

本研究自 1976–2023 年於田間採集出現疫病之洛神葵，調查地區涵蓋包括嘉義、臺南、雲林、南投及臺中等中部地區，並且完整記錄病原資料與完成柯霍式法則確定病原性。除透過形態與分子特徵鑑定所得之分離菌株外，同時測定病原之生理與病原性，例如菌株配對型、菌絲最適生長溫度，以及菌株致病力 (virulence) 差異與傷口有無對感染疫病的影響，並且初步篩選市面常見之洛神葵品種對疫病菌的抗感病性。本研究希冀透過建立洛神葵疫病基本資料，進而提供初步可能之防治方向。

材料與方法

病原菌之分離與保存

先將洛神葵罹病組織，包括根、莖及枝條等病組織洗淨、以紙巾瀝乾水分，接下來組織分離的方式如 Ann *et al*. (2018) 所述。分離出之疫病菌經單菌絲分離後，再次移殖於 5% V8 瓊脂 (5% V8 juice agar, 5% VA) 上，在 24℃ 下無光照培養 3–5 d，取前端菌絲塊 (10 mm × 5 mm × 5 mm) 保存於 20–24℃ 下含礦物油 (Mineral oil, Sigma Aldrich, Burlington, MA, USA) 之試管中備用。

供試菌株

自不同地區之罹病洛神葵上分離之 50 株分離菌株，詳細之供試菌株資料列於表 1。其他使用菌株包括美國加州大學 Dr. G. A. Zent-

表 1. 本研究自出現萎凋病徵之洛神葵所分離之 *Phytophthora nicotianae* 菌株清單。

Table 1. List of the *Phytophthora nicotianae* obtained from roselle plants exhibiting wilt symptoms in this study.

Diseased roselle tissue	Year	Location	Species	Isolate no.	Mating type
Stem base	1976	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-1	A^2
Stem base	1976	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-2	A^2
Stem base	1976	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-3	A^2
Stem base	1976	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-4	A^2
Stem base	1976	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-5	A^2
Seedling	1977	East, Chiayi City	*P. nicotiana*	PNhi2-1	A^2
Seedling	1977	East, Chiayi City	*P. nicotiana*	PNhi2-2	A^2
Stem base	1978	Madou, Tainan City	*P. nicotiana*	PNhi3-1	A^2
Stem base	1978	Madou, Tainan City	*P. nicotiana*	PNhi3-2	A^2
Stem base	1978	Madou, Tainan City	*P. nicotiana*	PNhi3-3	A^2
Stem base	1978	Madou, Tainan City	*P. nicotiana*	PNhi3-4	A^2
Stem base	1978	Madou, Tainan City	*P. nicotiana*	PNhi3-5	A^2

表 1. 本研究自出現萎凋病徵之洛神葵所分離之 *Phytophthora nicotianae* 菌株清單。(續)

Table 1. List of the *Phytophthora nicotianae* obtained from roselle plants exhibiting wilt symptoms in this study. (continued)

Diseased roselle tissue	Year	Location	Species	Isolate no.	Mating type
Stem base	1978	Madou, Tainan City	*P. nicotiana*	PNhi3-6	A^2
Stem base	1978	Madou, Tainan City	*P. nicotiana*	PNhi3-7	A^2
Stem base	1978	Madou, Tainan City	*P. nicotiana*	PNhi3-8	A^2
Stem base	1978	Madou, Tainan City	*P. nicotiana*	PNhi3-9	A^2
Stem base	1978	Madou, Tainan City	*P. nicotiana*	PNhi3-10	A^2
Stem base	1978	Madou, Tainan City	*P. nicotiana*	PNhi3-11	A^2
Stem base	1980	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-6	A^2
Stem base	1980	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-7	A^2
Stem base	1980	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-8	A^2
Stem base	1980	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-9	A^2
Stem base	1980	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-10	A^2
Stem base	1980	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-11	A^2
Stem base	1980	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-12	A^2
Stem base	1980	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-13	A^2
Stem base	1980	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-14	A^2
Stem base	1980	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-15	A^2
Stem base	1980	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-16	A^2
Stem base	1981	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-17	A^2
Stem base	1981	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-18	A^2
Stem base	1981	East, Chiayi City	*P. nicotianae*	PNhi1-19	A^2
Stem base	2001	Wufeng, Taichung City	*P. nicotianae*	p201210	A^1
Stem base	2001	Wufeng, Taichung City	*P. nicotianae*	p201211	A^1
Stem base	2001	Wufeng, Taichung City	*P. nicotianae*	p201212	A^1
Stem base	2001	Wufeng, Taichung City	*P. nicotianae*	p201213	A^1
Stem base	2010	Gukeng, Yunlin County	*P. nicotianae*	p210386	A^1
Stem base	2010	Gukeng, Yunlin County	*P. nicotianae*	p210387	A^1
Stem base	2010	Gukeng, Yunlin County	*P. nicotianae*	p210388	A^1
Stem base	2010	Gukeng, Yunlin County	*P. nicotianae*	p210389	A^1
Stem base	2010	Gukeng, Yunlin County	*P. nicotianae*	p210394	A^1
Stem base	2010	Gukeng, Yunlin County	*P. nicotianae*	p210395	A^1
Stem base	2010	Gukeng, Yunlin County	*P. nicotianae*	p210396	A^1
Stem base	2010	Gukeng, Yunlin County	*P. nicotianae*	p210397	A^1
Stem base and root	2015	Zhongliao, Nantou County	*P. nicotianae*	p215097	A^1
Stem base and root	2015	Zhongliao, Nantou County	*P. nicotianae*	p215098	A^1
Stem base	2023	Linnei, Yunlin County	*P. nicotianae*	p223017	A^1
Stem base	2023	Linnei, Yunlin County	*P. nicotianae*	p223018	A^1
Stem base	2023	Linnei, Yunlin County	*P. nicotianae*	p223019	A^1
Stem base	2023	Linnei, Yunlin County	*P. nicotianae*	p223020	A^1

myer 早年贈送的標準菌株 *P. nicotianae* A^1 菌株 (p991) 與 A^2 菌株 (p731)，用於菌株配對型之檢測。

菌落形態觀察

將供試菌株 p210394 與 p223020 (表 1) 於室溫 (25℃) 下培養於 5% 離心 V8 之瓊脂 (5% centrifuged V8 agar; 5% CVA) 與馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (potato dextrose agar; PDA, BD Difco™, Franklin Lakes, NJ, USA) 的玻璃培養皿 (直徑 9 cm；Pyrex, Corning Inc., Corning, NY, USA) 中，培養天數分別為 5–7 d 與 20–25 d。

疫病菌之培養與產孢

菌絲生長與溫度之關係

配製 5% CVA 平板，每培養皿 (直徑 9 cm) 中含有 20 mL 培養基。供試菌株先在 5% VA 室溫培養 3–5 d，以 0.6 cm 的打孔器在菌落先端切成菌絲塊，移入含 5% CVA 培養皿的一端 (約距邊緣 1 cm)。溫度分成 4、8、12、16、20、24、28、32 及 36℃ 等 9 處理，自第 2 日開始記錄菌絲的直線生長距離，至菌絲長滿培養皿或生長至第 7 日為止，統計各溫度自第 2 日起至最後一日之平均每日生長速度，確認菌絲之最適生長溫度。每處理 4 皿，試驗重複 3 次。

孢囊 (sporangia) 產生與游走子 (zoospores) 釋放

依 Hwang *et al*. (1975) 的方法，使供試菌株同步產生大量孢囊。孢囊長出後，在顯微鏡 (Olympus BX-50 Upright) 下觀察與測量其大小，並以 Canon 50D 相機拍攝形態，每菌株至少量測 30 個孢囊的大小。菌株同步形成大量孢囊後，每皿加入 20 mL 無菌水，於 16℃ 下靜置 30 min，再放回室溫 30 min (Hwang *et al*. 1975)。待游走子大量釋放後，倒入無菌燒杯，調整為 10^5 zoospores mL^{-1} 懸浮液，並將燒杯置入含冰塊的杯子內，作為接種備用。

厚膜孢子 (chlamydospores) 產生

取 5% VA 上培養 3–5 d 之供試菌株，將其先端菌絲切成 5 mm × 5 mm × 3 mm 小塊，移植於含有 20 mL 5% VA 的玻璃培養皿中，每皿放 5–7 個菌絲塊，24℃ 下無光照培養 4–7 d 後測量厚膜孢子大小，每菌株至少量測 30 個厚膜孢子。

配對型 (mating type) 與有性世代構造

依 Ann & Ko (1998) 的方法，將供試菌株分別與標準菌株 (*P. nicotianae*) p991 (A^1) 與 p731 (A^2) 於 24℃ 無光照對峙培養 7–14 d，於顯微鏡下鏡檢有無卵孢子 (oospores) 產生，以判斷測定供試菌株的配對型。可與 A^1 配對產生卵孢子者為 A^2 型；可與 A^2 配對形成卵孢子者為 A^1 型；如果自行形成卵孢子即為同絲型。異絲產孢者再進行薄膜配對 (Ko 1978)，約 20 d 後拍照並測量藏卵器、卵孢子及藏精器的構造與大小。每菌株至少量測 30 個不同的有性世代構造。

核醣體內轉錄區間 ITS 與 *cox I* 部分序列定序

萃取供試菌株之 gDNA，委託源資國際生物股份有限公司 (Tri-I Biotech Inc., New Taipei, Taiwan) 以特定引子對進行聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction; PCR) 與定序。增幅的序列包括核醣體內轉錄區間 (internal transcribed spacer, ITS；引子對 ITS4/ITS5) 序列 (White *et al*. 1990)，與cytochrome c oxidase subunit I (*cox I*；引子對 COXF4N/COXR4N) 區間的部分基因序列 (Kroon *et al*. 2004)，所使用之引子對與 PCR 增幅條件如其文獻所列。

利用 Vector NTI 軟體 (Vector NTI software v.10.0, InforMax Inc., Bethesda, MD, USA) 工具將上述獲得的 ITS 與部分 *cox I* 基因序列分別經由接合 (concatenation) 與修剪 (trimming) 後獲得完整序列。定序後的序列上傳到 National Center for Biotechnology Information (NCBI, http://www.ncbi.nlm.nih.gov) 網站，利用BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 功能從 GenBank 資料庫中搜尋相似度最高的疫病菌種類與菌株序列代號，並將本研究獲得之 p210394 與 p223020 菌株的 ITS 與 *cox I* 序列登錄在 GenBank 資料庫中 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)。

病原性測定

供試菌株包括 p210394 與 p223020。供試植物品種包括「臺東 1 號」、南投材明華先生提供之「大紅」與「斑馬」之洛神葵植株，供試時株齡約為 12 wk。種植方式為先將供試植株種子播種於培養土，發芽約 5 d 後移植於 6 吋盆中 (珍珠石：蛭石：培養土 = 1：1：3)，於 24–30℃ 溫室中生長，直至下述各實驗合適之株齡後供試。供試植物之莖基部先以酒精 (70% alcohol) 消毒，利用解剖刀 (feather double edge) 輕輕刮去靠近栽培土之莖基部表面組織以製造傷痍，傷痍處用消毒棉纏繞，將 10 mL 供試菌株之游走子懸浮液澆灌於消毒棉纏繞之傷痍上，再以鋁箔紙包覆並固定傷痍處。接種後全株罩塑膠袋 (60 cm × 30 cm) 並將袋口密封，培養於走入式定溫箱內 (24℃，RH 75–85%，12/12 h 光週期)，2 d 後移除塑膠袋。每 2 d 調查植株發病情形，至 2 wk 為止。每處理接種 5 株，試驗重複 2 次。對照處理接種無菌水。

不同品種 (品系) 之抗感病性測定

供試菌株為 p223020。供測的洛神葵株齡為 2 wk 大，品種包括「臺東 1 號」、「臺東 2 號」、「臺東 3 號」、「臺東 4 號」及「臺東 6 號」共 5 個品種 (Chen 2012; Chiang & Chen 2015; Chen 2022)，以及南投材明華先生提供之「大紅」與「斑馬」品種，種植與接種方法同上。每 2 d 調查植株發病情形，至 2 wk 為止。罹病級數 (disease index) 分為 0–4 共 5 級 (0：無病徵；1：莖基部褐化；2：莖基部縊縮；3：地上部萎凋；4：植株萎凋死亡)。每品種每次接種 5 株幼苗，試驗重複 3 次，共 15 株。每次的發病結果趨勢相似。將每品種的 15 株發病級數，利用 JASP 0.19.3.0 版統計分析軟體 (Love *et al*. 2019)，先進行無母數單因子變異數分析之 Kruskal-Wallis 檢定，確認 $P < 0.01$ 後，再以 Dunn's test 進行事後檢定，比較處理間平均值之差異，$P < 0.01$ 認定為具顯著性。最後以 Microsoft Office 365 中的 Excel 軟體繪製盒鬚圖 (box-and-whisker plot)。

結果

洛神葵疫病的病徵與危害狀況

自 1976 年起，嘉義、臺南、雲林、南投及臺中等多處果園之洛神葵出現地上部萎凋，葉片下垂、脫落 (圖 1A)，莖基部褐化縊縮等病徵；濕度高時罹病處常出現白色棉狀菌絲 (圖 1B)，且枝條亦可能受到感染而褐化縊縮 (圖 1C)。感染處之樹皮 (圖 1D) 或維管束與髓部亦會褐化 (圖 1E)。

疫病菌形態與生長特性

於 1976–2023 年間，自罹染疫病的洛神葵莖基與根部分離病原菌，共計 50 株 (表 1)，其菌落與孢囊特徵均類似，但配對型有所差異。1976–1981 年在嘉義與臺南分離得的 32 個分離株配對型為 A^2，此後 2001–2023 年在臺中、雲林及南投等地分離得的 18 個分離株配對型為 A^1。本研究以 p210394 與 p223020 為供試代表菌株，敘述其型態如下 (圖 2、表 2)。

在 5% CVA 上，p210394 與 p223020 之菌絲皆可在 4–36℃ 生長，最適生長溫度分別為 28℃ 與 32℃ (表 2)，兩者有些微差距。室溫下，在 5% CVA 平板培養基上 (圖 2A)，菌落邊緣出現些微的嵌紋狀花紋，氣生菌絲稀少 (圖 2A)；在 PDA 平板培養基上 (圖 2B)，菌落為瓣化 (petaloid) 到玫瑰花結狀 (rossette)，氣生菌絲較在 5% CVA 上多。孢囊以單假軸方式著生 (simple sympodial branching) (圖 2C)，每一孢囊梗可著生 5–7 個孢囊。孢囊為卵圓形 (ovoid) 或倒梨形 (obpyriform)，兩側對稱或稍不對稱，孢囊不具脫落性，具有明顯的乳突 (prominent papillae)，長 × 寬 46.2-(53.0)-61.5 × 38.4-(43.6)-49.2 [min.-(avg.)-max.] μm，長寬比為 1.1-(1.2)-1.4。藏卵器表面平滑，藏精器單生單室底著 (圖 2C)，藏卵器大小為 22.5-(26.2)-32.5 μm；卵孢子大小為 18.8-(22.5)-27.5 μm；藏精器大小為 10.0-(12.0)-12.5 × 7.5-(12.0)-17.5 μm。可產生厚膜孢子 (圖 2D)，大小為 25.0-(34.1)-45.0 μm。根據形態特徵，符合 *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan 之描述 (Waterhouse 1963, 1970; Ho *et al*. 1995)。

圖 1. 洛神葵疫病病徵。(A) 受感染的洛神葵植株出現枯萎症狀；(B) 受感染的莖基部褐變，並出現白色菌絲；(C) 枝條被感染導致變色或壞死；(D) 受感染的樹皮橫切面上褐化；(E) 維管束與髓部褐化。

Fig. 1. Roselle blight caused by *Phytophthora nicotianae*. (A) Wilted symptoms of the infected roselle plant; (B) The infected stem exhibits constriction and browning, with white mycelium; (C) Upper stem infection showing discoloration or necrosis; (D) Browning of bark; and (E) Vascular and woody tissues in a cross-section of the infected branches.

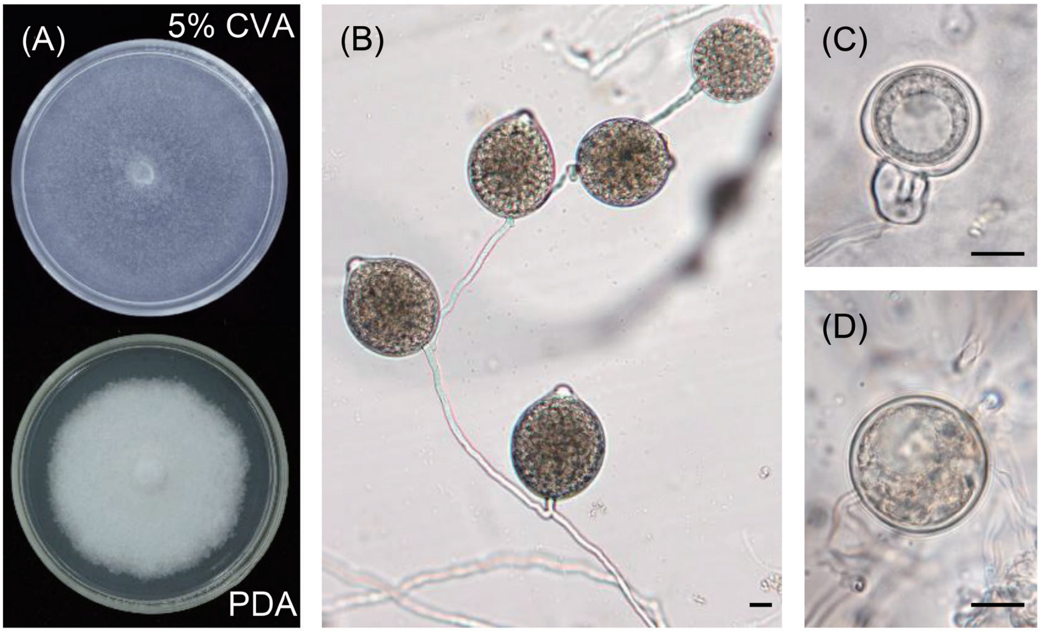

圖 2. *Phytophthora nicotianae* 代表菌株 p223020 之特徵。(A) 病原菌在培養基 (5% centrifuged V8 agar; CVA 與 potato dextrose agar; PDA) 上於 25℃下生長 7 d 的特徵；(B) 孢囊；(C) 穿雄生之藏卵器、卵孢子及下方的藏精器；(D) 厚膜孢子。

Fig. 2. Morphological features of the representative *Phytophthora nicotianae* isolate, p223020. (A) Colony morphologies on 5% centrifuged V8 agar (CVA) and potato dextrose agar (PDA) plates after 7 d growth at 25℃, with top view; (B) Sporangia with prominent papillae and displaying simple sympodial branching; (C) Oogonia and oospore with amphigynous antheridia; and (D) Abundant chlamydospores observed. Bar = 10 μm.

ITS 區間與 *cox I* 部分序列分析比對

藉由 NCBI 網站 GenBank 資料庫比對供試菌株 p210394 與 p223020 之 ITS 區間與 *cox I* 基因部分片段 (表 2)，供試菌株之 ITS 區域序列皆與 *P. nicotianae* 2013CAP2002 (accession no. KJ549640) 序列相似度為 100%；供試菌株之 *cox I* 的基因序列亦皆與 *P. nicotianae* P1976 (accession no. DAZ88467) 序列相似度為 100%。本試驗結果顯示 *P. nicotianae* 基因序列的比對結果與形態鑑定結果具一致性。

疫病菌病原性測試

在株齡 12 wk 的洛神葵「大紅」植株莖基部，分別澆灌接種 *P. nicotianae* p223020 與 p210394 菌株的游走孢子懸浮液。人工傷痍處理約 2 wk 後，接種點開始出現與田間相似的病徵 (圖 3)，包括地上部萎凋、部分葉片下垂及落葉；莖基部自傷口處往上下擴散出現褐化縊縮與維管束褐化，部分供試植株接種處出現白色菌絲；根系壞疽、細根減少。改以同為株齡 12 wk 的洛神葵品種「斑馬」與「臺東 1 號」為供試植株。接種 2 wk 後，植株無發病或僅部分出現輕微的萎凋，莖基部出現不明顯或輕微的壞疽 (圖 3)。

改以 p210394 作為供試菌株亦可得相似的結果，但「大紅」與「斑馬」供試植株在接種後的病徵更嚴重，包括地上部萎凋、莖基褐化壞疽縊縮、維管束褐化，及根部壞疽等病徵更明顯；而「臺東 1 號」較抗病，在接種後的病徵則維持輕微或不明顯 (圖 3)。

前述發病植株與發病部位，經組織分離後可再分離得相同病原，完成柯霍氏法則 (Koch’s postulates)。無人工傷痍處理或接種無菌水的對照組則無明顯病徵，且組織分離亦無法分離獲得病原菌。

表 2. 洛神葵疫病病原 *Phytophthora nicotianae* 代表菌株之序列資訊、產孢構造大小及最適生長溫度。

Table 2. Sequence information, sporulation structure size, and optimal growth temperature of the representative *Phytophthora nicotianae* isolates from roselle blight.

Isolate no.	Accession no.		Sporangia (µm)[z]			Oogonia (µm)	Oospores (µm)	Antheridia (µm)		Chlamydospores (µm)	Optimum temperature for mycelium growth (℃)
	ITS	*cox I*	Length	Width	L/W			Length	Width		
p210394	PV123966	PV133357	45.0-(51.5)-60.0	30.0-(37.5)-45.0	1.1-(1.4)-1.6	25.0-(29.8)-35.0	22.5-(27.0)-32.5	10.0-(11.8)-12.5	7.5-(13.0)-15.0	25.0-(33.8)-45.0	28
p223020	PV123967	PV133358	46.2-(53.0)-61.5	38.4-(43.6)-49.2	1.1-(1.2)-1.4	22.5-(26.2)-32.5	18.8-(22.5)-27.5	10.0-(12.0)-12.5	7.5-(12.0)-17.5	25.0-(34.1)-45.0	32

[z] $N \geq 30$; the size of the structures mention in the list were presented as "min.-(avg.)-max".

不同洛神葵品種品系對 *P. nicotianae* 之抗感病性測定

為瞭解不同品種之洛神葵對 *P. nicotianae* 的抗感病性，蒐集臺灣中、南及東部常見之 7 種洛神葵品種，並以株齡 2 wk 的植株供試，並以中度致病能力的分離株 p223020 作為品種抗感病篩選時的供試菌株。結果顯示 (圖 4)，供測品種中，「大紅」(DH)、「斑馬」(ZB) 及「臺東 6 號」(T6) 在接種 *P. nicotianae* 後的平均罹病級數介於 3.1–3.9 間，感病性顯著地高於其他供試品種，病徵多為植株萎凋死亡或地上部萎凋 (罹病級數個別為 4 與 3)，少數為輕微的莖基部縊縮 (罹病級數 2)；「臺東 2 號」(T2)、「臺東 3 號」(T3) 及「臺東 4 號」(T4) 之罹病級數平均罹病級數介於 2.3–2.4 間，感病性顯著地低於其他供試品種，病徵多為輕微的莖基部縊縮，部分為地上部萎凋，少數出現植株萎凋死亡，亦有少部分僅接種處出現褐化 (罹病級數 1)；「臺東 1 號」(T1) 平均罹病級數為 2.8，罹病嚴重度雖然未若「大紅」、「斑馬」及「臺東 6 號」高，但仍稍高於「臺東 2 號」、「臺東 3 號」及「臺東 4 號」，顯示「臺東 1 號」感病性為介於供試品種中間，病徵多為地上部萎凋與輕微的莖基部縊縮，部分植株萎凋死亡，少數僅接種處出現褐化。以上結果經 Kruskal-Wallis 檢定及 Dunn's 事後檢定分析後顯示，品種間差異達顯著水準 ($P < 0.01$)。

討論

臺灣自 1974 起，即有由 *Phytophthora* sp. 引起的洛神葵疫病害紀錄 (Yu 1975)，本研究進一步補充與完善相關資料。本研究於 1976–2023 年，在中部的縣市採集發病的洛神葵疫病植物組織，藉由組織分離皆取得形態一致的菌株。經過形態與序列鑑定，確定獲得的菌株為 *P. nicotianae* (表 1)。進一步透過完成科霍氏法則，證實臺灣的洛神葵疫病是由 *P. nicotianae* 引起。

洛神葵疫病與洛神葵萎凋病的病徵相似，可以區別之處在於洛神葵疫病在莖基部形成白色菌絲，而洛神葵萎凋病則是形成白至黃色菌

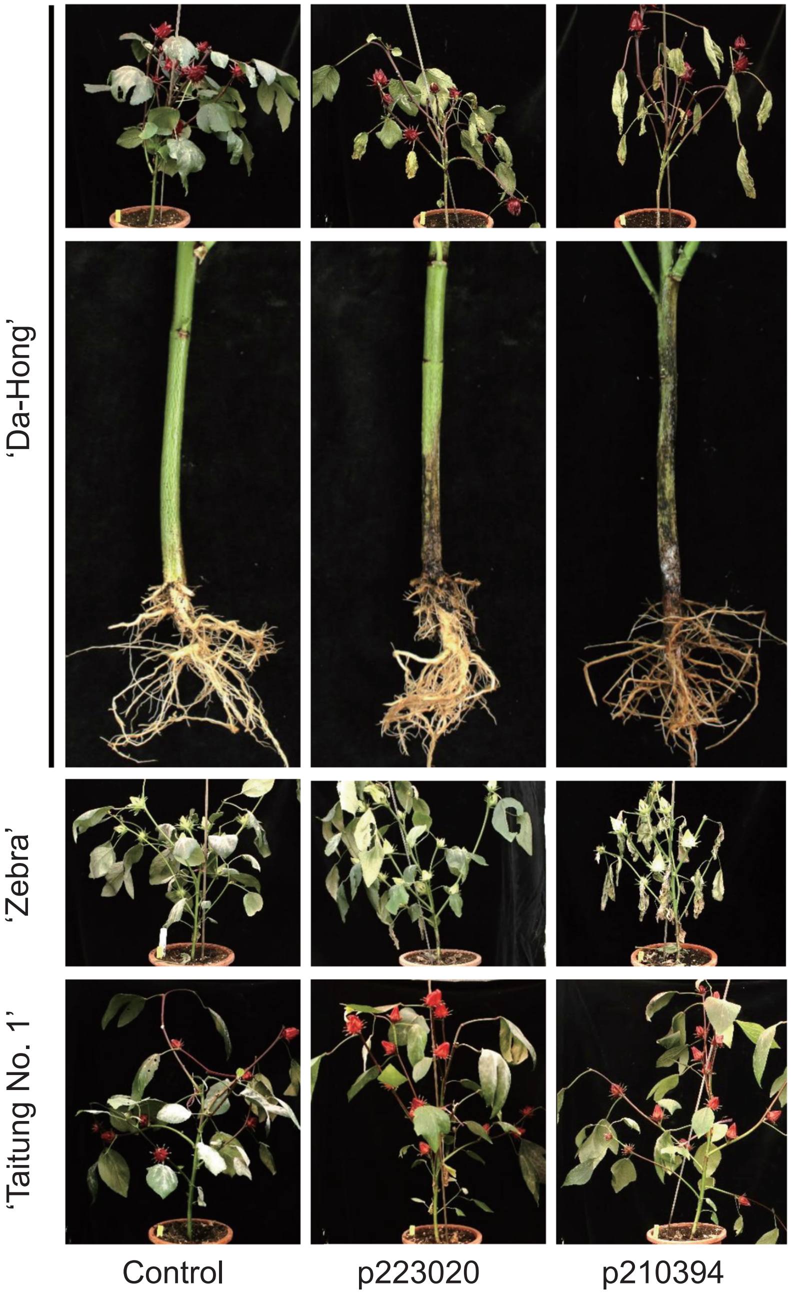

圖 3. 洛神葵疫病病原 *Phytophthora nicotianae* (分離株 p223020 與 p210394) 之病原測試。供試植物包括「大紅」、「斑馬」以及「臺東 1 號」。植株株齡 12 wk 個別澆灌以 10 mL 對應菌株的游走子懸浮液 (10^5 zoospores mL^{-1})。每處理每次接種 5 個植株，每個試驗重複 2 次。對照組以無菌水取代游走子懸浮液。接種 2 wk 後記錄病徵表現。

Fig. 3. Pathogenicity test of *Phytophthora nicotianae* (isolates p223020 and p210394) on roselle cultivars. The tested cultivars included 'Da-Hong', 'Zebra', and 'Taitung No. 1'. Twelve-week-old roselle plants were wounded at the basal stem and inoculated with 10 mL of zoospore suspension (10^5 zoospores mL^{-1}) of each tested isolates. Each treatment included 5 replicates, and the experiment was repeated twice. Control plants were inoculated with sterile water. Disease symptoms were recorded 2 wk post-inoculation.

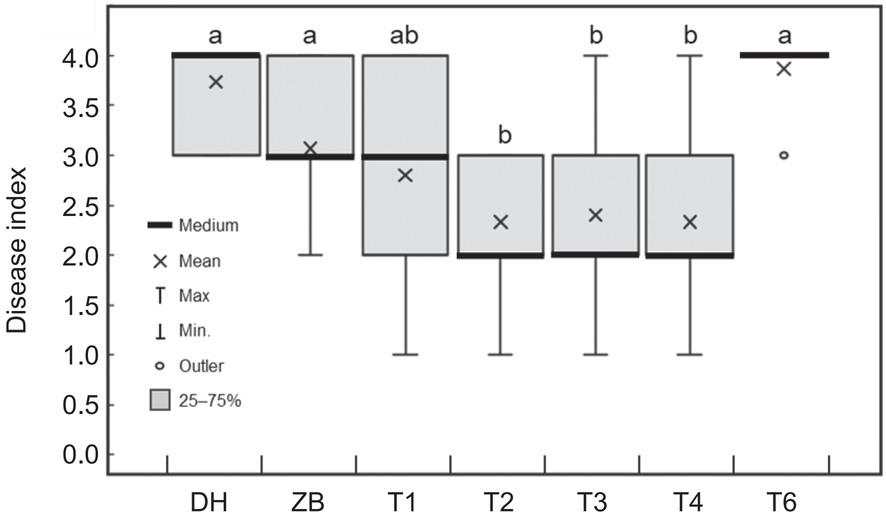

圖 4. 不同洛神葵品種接種 *Phytophthora nicotianae* (分離株 p223020) 2 wk 後之罹病嚴重程度。以株齡 2 wk 的植株進行試驗，每品種每次接種 5 個植株，每個試驗重複 3 次。每次的發病結果趨勢相似，將每品種的 15 株發病級數數據集合進行統計分析。罹病級數分為 0–4：0 = 無病徵；1 = 莖基部褐化；2 = 莖基部縊縮；3 = 地上部萎凋；4 = 植株萎凋死亡。柱狀圖上方之不同字母代表經 Kruskal-Wallis 檢定與 Dunn's 事後比較分析後，各品種在統計上具顯著差異 ($P < 0.01$)。DH、ZB、T1、T2、T3、T4 及 T6 分別代表「大紅」、「斑馬」、「臺東 1 號」、「臺東 2 號」、「臺東 3 號」、「臺東 4 號」及「臺東 6 號」等品種。

Fig. 4. Disease severity of different roselle cultivars following inoculation with *Phytophthora nicotianae* (isolate p223020) 2 wk post-inoculation. The experiment was conducted on 2-week-old plants and repeated 3 times, with 5 replicates for each cultivar in each trial. As the disease severity trends were consistent across the three replicates, data from all 15 plants per cultivar were pooled for statistical analysis. Disease severity was evaluated using a 0 to 4 disease index: 0 = no symptoms; 1 = browning at the stem base; 2 = constriction at the stem base; 3 = wilting of aerial parts; and 4 = complete plant wilting and death. Different letters above the bars indicate statistically significant differences among cultivars based on the Kruskal-Wallis test followed by Dunn's test ($P < 0.01$). DH, ZB, T1, T2, T3, T4, and T6 represent the cultivars 'Da-Hong', 'Zebra', and 'Taitung No. 1, 2, 3, 4, and 6', respectively.

絲。然而，兩病害在發病前期的症狀極為相似，皆為地上部萎凋、莖基部褐化及維管束變色。在洛神葵萎凋的調查中，也常發現 *P. nicotianae* 與 *Fusarium solani* 同時存在 (Ortega-Acosta *et al*. 2015)。洛神葵主要產區集中在臺東縣 (Chen 2022)，Wang *et al*. (2021) 普查臺東縣內洛神葵出現地上部萎凋病徵的發病原因，近 5 成以上的組織可分離得病原菌 *F. solani*，而僅約 1 成左右的組織分離得 *P. nicotianae*。Yu (1975) 以及本研究 1976–2023 年的調查，採樣地點皆是在中部地區 (表 1)，於出現萎凋病徵的洛神葵上皆一致分離獲得 *P. nicotianae*。由此可知，中部與東部的洛神葵病害相可能略有差異，中部地區長期以來可能以 *P. nicotianae* 為主要病原，而東部則以 *F. solani* 為主要病原。兩地區對於出現萎凋的洛神葵植株可能要有不一樣的防治策略。

細究本研究之田間調查，可看到早期於嘉義與臺南等地分離的洛神葵疫病 *P. nicotianae* 分離株配對型皆為 A^2，而後期在臺中、雲林、以及南投等地分離得的菌株配對型則為 A^1。雖尚未能釐清配對型變化是因為菌株族群變遷的緣故，或是區域性差異，但可以知道在臺灣 *P. nicotianae* A^1 與 A^2 兩種配對型皆可引起洛神葵疫病。根據在發生地點的觀察，無論是哪種配對型皆可引起嚴重的洛神葵疫病，調查的田區洛神葵疫病發病比例高且受害嚴重。

本研究中，*P. nicotianae* 洛神葵分離株 p210394 與 p223020 呈現不同的致病毒力 (圖 3)。以接種 12 wk 的植株為例，分離株 p223020

感染「大紅」後可造成植株中度萎凋，而感染「臺東 1 號」與「斑馬」則僅造成輕微到不明顯的萎凋，顯示分離株 p223020 展現出中度的致病力；分離株 p210394 感染「大紅」與「斑馬」後皆造成植株嚴重萎凋，顯示分離株 p210394 展現出高度的致病力。除了分離株間致病力差異性可影響罹病度外，高致病分離株 p210394 感染「臺東 1 號」後，植株僅出現輕微到不明顯的萎凋，與中度致病分離株 p223020 的結果相似，顯示植株品種抗性對病害管理相當重要。本研究亦發現，唯經過傷痍處理的植株才會發病 (未顯示之資料)，若未經過傷痍處理者則不發病，顯示傷口亦是該病害發生的關鍵之一。因為分離株 p210394 具有極強的致毒能力，為避免因使用致毒力強的菌株而無法區分不同品種的洛神葵對 *P. nicotianae* 的抗感病性關係，因此後續選用致毒力中等的 p223020 菌株，作為品種抗感病篩選時的供試菌株。

洛神葵的品種多元，經過長期演變，衍生出性狀各異的地方品系，其命名與品系混雜，如本次蒐集包括中部地區常見的「大紅」與「斑馬」品種。另蒐集由臺東區農業改良場育成、已知性狀及遺傳背景的洛神葵品種，除「臺東 5 號」因故未加入測試外，其他「臺東 1 號」、「臺東 2 號」、「臺東 3 號」、「臺東 4 號」及「臺東 6 號」品系皆列入供測。以 *P. nicotianae* p223020 菌株接種不同品種的洛神葵結果顯示，「大紅」、「斑馬」及「臺東 6 號」具較高的感病性，植株出現萎凋、倒伏，甚至死亡；「臺東 2 號」、「臺東 3 號」及「臺東 4 號」則具低感病性，植株僅出現莖基縊縮或程度不一的萎凋；而「臺東 1 號」介於兩者之間 (圖 4)。另外，比較圖 3 與圖 4 的罹病狀況可知，當供測品種「大紅」、「臺東 1 號」以及「斑馬」株齡由 2 wk 增加為 12 wk 時，雖然同樣接種 *P. nicotianae* p223020 菌株，但供試植株的罹病度都會降低。其中，「大紅」僅出現中度萎凋，「斑馬」與「臺東 1 號」嚴重度降為輕微或是不明顯 (圖 3)，推測可能具成株抗性的趨勢，有待未來進一步測試。

雖然決定洛神葵各品種抗疫病的效果，仍有待進一步於田間試驗評估 (Rojas-Rojas *et al*. 2017; Swathi *et al*. 2025)，但由本研究可知，菌株致病力、有無傷口以及洛神葵品種等因子，都會影響植株對於 *P. nicotianae* 的感病性。

本研究以科學的證據確認 *P. nicotianae* 為造成洛神葵疫病的主要病原，其在田間包含 2 種可進行有性世代的配對型。透過病原性以及品種感病性測試，建議田間管理時應特別注意品種的選擇，同時注意避免害蟲咬傷、颱風等災害，或其他原因造成的傷口，以降低洛神葵疫病發生的風險。

誌謝

感謝本組王如玉技工協助蒐集洛神葵品種。本研究經費承蒙農業部經費支持，計畫編號 114 農科-5.3.1-農 01 (4)。

引用文獻

Ann, P. J. and W. H. Ko. 1988. Hormonal heterothallism in *Phytophthora parasitica*: A novel mode of sexual re-production? J. Gen. Microbiol. 134:2985–2992. doi:10.1099/00221287-134-11-2985

Ann, P. J., C. P. Lin, J. N. Tsai, and H. L. Tsai. 2018. Newly recorded diseases of ornamental plants caused by *Phytophthora palmivora* in Taiwan. J. Plant Med. 60:21–28. (in Chinese with English abstract) doi:10.6716/JPM.201812_60(3_4).0003

Ansari, M., T. Eslaminejad, Z. Sarhadynejad, and T. Eslaminejad. 2013. An overview of the roselle plant with particular reference to its cultivation, diseases and usages. Eur. J. Med. Plants 3:135–145. doi:10.9734/EJMP/2013/1889

Chen, J. F. 2012. Breeding of the new roselle varieties Taitung 1, 2, 3. Res. Bull. Taitung Dist. Agric. Res. Ext. Stn. 22:53–65. (in Chinese with English abstract) doi:10.6959/RBTDAIS.201209.0053

Chen, J. W. 2022. Breeding of roselle ‘Taitung No.6 -Black Crystal’. Res. Bull. Taitung Dist. Agric. Res. Ext. Stn. 32:1–14. (in Chinese with English abstract)

Chiang, P. S. and J. F. Chen. 2015. Breeding of the roselle variety ‘Taitung 4 -Red Zebra’. Res. Bull. Taitung Dist. Agric. Res. Ext. Stn. 25:1–12. (in Chinese with English abstract)

Ho, H. H., P. J. Ann, and H. S. Chang. 1995. The Genus

Phytophthora in Taiwan. Ins. Bot., Acad. Sin. Mo. Ser. 15. Taipei, Taiwan. 86 pp.

Huang, J. H., C. P. Lin, C. W. Huang, J. N. Tsai, and P. J. Ann. 2023. *Phytophthora* species in Taiwan and their host range: A review. J. Taiwan Agric. Res. 72:289–316. (in Chinese with English abstract) doi:10.6156/JTAR.202312_72(4).0002

Hwang, S. C., W. H. Ko, and M. Aragaki. 1975. A simplified method for sporangial production by *Phytophthora cinnamomi*. Mycologia. 67:1233–1234. doi:10.1080/00275514.1975.12019873

Ko, W. H. 1978. Heterothallic *Phytophthora*: Evidence for hormonal regulation of sexual reproduction. J. Gen. Microbiol. 107:15–18. doi:10.1099/00221287-107-1-15

Kroon, L. P. N. M., E. C. P. Verstappen, L. F. F. Kox, W. G. Flier, and P. J. M. Bonants. 2004. A rapid diagnostic test to distinguish between American and European populations of Phytophthora ramorum. Phytopathology 94:613–620. doi:10.1094/PHYTO.2004.94.6.613

Love, J., R. Selker, M. Marsman, T. Jamil, D. Dropmann, J. Verhagen, ... E. J. Wagenmakers. 2019. JASP: Graphical statistical software for common statistical designs. J. Stat. Softw. 88(2):1–17. doi:10.18637/jss.v088.i02

Ortega-Acosta, S. Á., J. Hernández-Morales, J. S. Sandoval-Islas, V. Ayala-Escobar, L. Soto-Rojas, and A. Alejo-Jaimes. 2015. Distribution and frequency of organisms associated to disease "black leg" of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Guerrero, México. Rev. Mex. Fitopatol. 33:173–194. (in Spanish with English abstract)

Rojas-Rojas, R., V. H. Aguilar-Rincón, C. D. L. G. de Alba, C. Velasco-Cruz, E. Valadez-Moctezuma, J. Hernández-Morales, and F. de Jesús Caro-Velarde. 2017. Response of native roselle varieties (*Hibiscus sabdarifa* L.) to infection by *Phytophthora parasitica* Dastur in Mexico. Acad. J. Biotechnol. 5:172–179. doi:10.15413/ajb.2017.0306

Swathi, B., Y. Rajasekhar, G. Sreenivas, R. M. Srinivas, R. Y. Sandhya, and B. G. Chitti. 2025. Evaluation of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) varietal responses to foot and stem rot caused by *Phytophthora parasitica* var. *sabdariffae*. Arch. Curr. Res. Intl. 25:288–294. doi:10.9734/acri/2025/v25i21086

Tzean, S. S., K. C. Tzeng, C. A. Chang, T. T. Tsay, and H. F. Yen (eds.) 2019. List of Plant Diseases in Taiwan. 5th ed. Taiwan Phytopathology Society. Taichung, Taiwan. 329 pp. (in Chinese)

Wang, C. W., J. Y. Fong, Y. H. Hou, and Y. L. Chen. 2019. Identification of roselle wilt disease and development of organic control materials. J. Plant Med. 61:78. (in Chinese)

Wang, C. W., Y. H. Yu, C. Y. Wu, R. Y. Feng, K. Tandon, Y. L. Chen, and S. L. Tang. 2021. Detection of pathogenic and beneficial microbes for roselle wilt disease. Front. Microbiol. 12:756100. doi:10.3389/fmicb.2021.756100

Waterhouse, G. M. 1963. Key to the Species of *Phytophthora* de Bary. Mycological Papers. Volume 92. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey, England. 22 pp.

Waterhouse, G. M. 1970. The Genus *Phytophthora* de Bary: Diagnoses (or descriptions) and Figures from the Original Papers. Mycological Papers. Volume 122. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey, England. 59 pp.

White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. p.315–322. *in*: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. (Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Snirsky, and T. J. White, eds.) Academic Press. San Diego, CA. 482 pp. doi:10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1

Yu, K. S. 1975. First report of roselle blight. J. Plant Pathol, Natl. Chung Hsing Univ. 6:112–144. (in Chinese)

Identification of *Phytophthora nicotianae*, the Causal Agent of Roselle Blight and Screening for Resistant Cultivars

Hui-Ling Tsai[1], Yue-Mei Zhan[1], Yi-Wei Hsu[2], Jin-Hsing Huang[3], Jyh-Nong Tsai[4], Pao-Jan Ann[5], Jing-Wen Chen[6], and Chu-Ping Lin[7,*]

Abstract

Tsai, H. L., Y. M. Zhan, Y. W. Hsu, J. H. Huang, J. N. Tsai, P. J. Ann, J. W. Chen, and C. P. Lin. 2025. Identification of *Phytophthora nicotianae*, the causal agent of roselle blight and screening for resistant cultivars. J. Taiwan. Agric. Res. 74(3):345–357.

Roselle (*Hylocereus* spp.) is an important specialty crop in Taiwan. A field survey conducted in central Taiwan revealed that during the rainy season, roselle plants frequently developed blight symptoms including wilting, browning at the base of the stems, and root rot with brown discoloration. At an advanced stage, affected plants were desiccated and died resulting in severe yield loss. Most isolates of the roselle blight pathogen obtained in recent years were identified as A^1 mating type, while those isolated earlier were A^2 mating type. Pathogen identification was performed using morphological traits and molecular sequencing, and with the fulfillment of Koch's postulates *Phytophthora nicotianae* (= *P. parasitica*) was confirmed as the causal agent. Pathogenicity varied among isolates, and disease severity were influenced by factors such as the presence of wounds. Resistance screening using moderately virulent isolates showed that roselle cultivars differ in their susceptibility to *P. nicotianae*. Among the 7 common cultivars tested, 'Taitung No. 2', 'Taitung No. 3', and 'Taitung No. 4' exhibited the highest level of resistance, while 'Da-Hong' and 'Zebra' were the most susceptible ones. 'Taitung No. 1' displayed a moderate level of susceptibility.

Key words: Roselle blight, Pathogenicity test, Variety resistance and susceptibility.

Received: May 15, 2025; Accepted: July 22, 2025.

* Corresponding author, e-mail: cplin@tari.gov.tw
1 Project Assistants, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.
2 Undergraduate Student, Department of Plant Medicine, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung County, Taiwan, ROC.
3 Research Fellow, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.
4 Research Fellow and Division Director, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.
5 Former Research Fellow and Division Director, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.
6 Assistant Research Fellow, Crop Improvement Section, Taitung District Agricultural Research and Extension Station, Taitung County, Taiwan, ROC.
7 Assistant Research Fellow, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.